

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **07-258107**
(43)Date of publication of application : **09.10.1995**

(51)Int.Cl. **A61K 35/84**
A23L 1/30
A23L 2/38
// C07G 17/00

(21)Application number : 06-074294	(71)Applicant : ITO HITOSHI IWADE KINGAKU KENKYUSHO:KK
(22)Date of filing : 17.03.1994	(72)Inventor : ITO HITOSHI O GUNSHI SUMITANI TOSHIMITSU

(54) ORAL ADMINISTRATION AGENT AND FOOD OR DRINK HAVING IMMUNODEFICIENCY IMPROVING ACTION

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide an oral administration agent and a food or drink having immunodeficiency improving action, exhibiting excellent immunodeficiency improving action different from conventional immunostimuiator by oral administration and extremely easily usable in practical use.

CONSTITUTION: This oral administration agent contains a composite component produced by extracting the fruit body of *Agricus blazei*, its crushed material or dried product with hot water as an active component. This food or drink contains the above composite component.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]	28.02.2001
[Date of sending the examiner's decision of rejection]	
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]	
[Date of final disposal for application]	
[Patent number]	3524145
[Date of registration]	20.02.2004
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]	
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]	

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-258107

(43) 公開日 平成7年(1995)10月9日

(51) Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/84	A B D A	8217-4C		
A 2 3 L 1/30	B			
2/38	H			
// C 0 7 G 17/00	Z			

審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平6-74294

(22) 出願日 平成6年(1994)3月17日

(71) 出願人 000118095

伊藤 均

三重県津市城山2丁目3-10

(71) 出願人 000141381

株式会社岩出菌学研究所

三重県津市末広町1番9号

(72) 発明者 伊藤 均

三重県津市城山2丁目3-10

(72) 発明者 王 軍志

三重県津市栗真町屋町1784-14

(72) 発明者 隅谷 利光

三重県津市末広町1番9号 株式会社岩出菌学研究所内

(74) 代理人 弁理士 入山 宏正

(54) 【発明の名称】 免疫能低下改善作用を有する経口投与剤及び飲食品

(57) 【要約】

【目的】 本発明は、経口投与により従来の免疫促進剤とは異なる優れた免疫能低下改善作用を示し、その具体的使用に際して誠に簡便な、免疫能低下改善作用を有する経口投与剤及び飲食品を提供するものである。

【構成】 本発明の経口投与剤は、ヒメマツタケの子実体、その破砕物又はその乾燥物から熱水で抽出して得られる複合成分を活性成分とすることを特徴としており、また本発明の飲食品は上記複合成分を含有することを特徴としている。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒメマツタケの子実体、その破砕物又はその乾燥物から熱水で抽出して得られる複合成分を活性成分とすることを特徴とする免疫能低下改善作用を有する経口投与剤。

【請求項2】 ヒメマツタケの子実体、その破砕物又はその乾燥物から熱水で抽出して得られる複合成分を含有することを特徴とする飲食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ハラタケ属 (*Agaricus*) のキノコであるカワリハラタケ (*Agaricus blazei*)、通称ヒメマツタケに含まれる複合成分を活用した、免疫能低下改善作用を有する経口投与剤及び飲食品に関する。

【0002】

【従来の技術】担癌宿主に対する抗癌剤投与や放射線照射によって免疫能低下が引き起こされることが知られており、また免疫不全の代表例としてはエイズが知られている。一方、きのこ由来の多糖体(クレスチン、レンチナン)や溶連菌製剤(ビシバニール)が免疫促進剤として提供されており、ヒメマツタケについてはその子実体に抗癌活性成分や肝機能改善成分が含まれていることが報告されている(特開昭64-67194、特開昭64-67195、特開平2-78630、特開平2-124829)。しかし、ヒメマツタケの子実体から分離される複合成分に免疫能低下改善作用があることは報告されていない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、ヒメマツタケの子実体から分離される複合成分を活用した、下記1)~5)の生物活性を協同的に示す免疫能低下改善作用を有する、新規の経口投与剤及び飲食品を提供するのである。

- 1) マクロフェージを主体とする細網内皮系機能賦活作用
- 2) 担癌宿主におけるマクロフェージと補体系との相互作用及び補体第3成分の活性化作用
- 3) 担癌宿主におけるL3T4-陽性細胞及びアシアロGM1-陽性細胞の産生抑制に対する促進作用
- 4) エイズ発症の予知因子としてのCD4(ヘルパーT細胞)/CD8(サブプレッサーT細胞)比の増加作用
- 5) 抗癌剤投与、放射線照射による免疫抑制状態における赤血球、白血球、血小板の減少防止と抗体産生回復作用

【0004】

【課題を解決するための手段】しかして本発明者らは、従来の免疫促進剤とは異なる免疫能低下改善作用を有する新規の経口投与剤を得るべく鋭意研究した結果、該経口投与剤としてヒメマツタケの子実体、その破砕物又は

その乾燥物から熱水で抽出して得られる複合成分が正しく好適であり、最も簡便には該複合成分を飲食品に含有させて供し得ることを見出した。

【0005】すなわち本発明は、ヒメマツタケの子実体、その破砕物又はその乾燥物から熱水で抽出して得られる複合成分を活性成分とすることを特徴とする免疫能低下改善作用を有する経口投与剤と、上記複合成分を含有することを特徴とする飲食品とに係る。

【0006】本発明ではヒメマツタケの子実体から複合成分を得る。対象となるのはヒメマツタケの子実体、その破砕物又はその乾燥物であるが、保存性、取扱性及び抽出効率の点で乾燥物が好ましい。

【0007】本発明ではヒメマツタケの子実体、その破砕物又はその乾燥物を熱水で抽出する。目的とする複合成分は熱水抽出液に含まれてくる。熱水抽出に先立ち、ヒメマツタケの子実体、その破砕物又はその乾燥物を有機溶媒又は含水性有機溶媒で抽出処理して、これらに特有の臭気成分や色素成分を除去しておくのも有効である。ここに用いる有機溶媒としてはメタノール、エタノール、酢酸エチル、エーテル等があり、また含水性有機溶媒としては一般に30%以下の範囲で水を含有する含水メタノール、含水エタノール等があるが、取扱性及び残留有機溶媒の点で80%程度のエタノールが好ましい。

【0008】また得られる熱水抽出液をアルコール沈澱したり、更にはアルコール沈澱物を液体クロマトグラフィーで分画して精製するのも有効である。本発明の複合成分としては熱水抽出液、その減圧濃縮液又はその凍結乾燥物を用いることもできるが、上記のように精製した凍結乾燥物を用いるのが好ましい。

【0009】ヒメマツタケの子実体の乾燥物をその倍量の熱水で2時間抽出し、その熱水抽出液を更に減圧濃縮、液体クロマトグラフィーによる分画、透析及び凍結乾燥して得られる複合成分は、その一例を挙げると、次のような化学的組成を有する。粗灰分5.54%(重量%、以下同じ)、粗蛋白43.19%、粗脂質3.73%、粗繊維6.01%、糖質41.56%、エルゴステロール0.14%。これらの粗灰分、粗蛋白、粗脂質及び糖質は、更に分析すると、それぞれ表1、表2、表3及び表4の組成を有する。

【0010】

【表1】

(3)

特開平7-258107

4

3

成 分	粗灰分中の割合(%)
K ₂ O	65.49
Na ₂ O	0.50
CaO	0.31
Fe ₂ O ₃	0.52
Al ₂ O ₃	0.81
MgO	2.67
MnO	0.01
CuO	0.07
ZnO	0.31
Cl	4.26
P ₂ O ₅	12.79
SiO ₂	12.25

【0012】

【表3】

10

【0011】

【表2】

成 分	粗蛋白中の割合(%)
アスパラギン酸	10.7
スレオニン	5.2
セリン	5.3
グルタミン酸	11.1
グリシン	9.3
アラニン	11.9
バリン	4.9
メチオニン	1.1
イソロイシン	3.3
ロイシン	10.8
チロシン	2.4
フェニルアラニン	4.5
リジン	5.3
アルギニン	5.2
プロリン	6.9
シスチン	-

20

30

成 分	粗脂質中の割合(%)	粗脂質のうちで中性脂肪中の割合(%)	粗脂質のうちでリン脂質中の割合(%)
ラウリン酸	0.2	0.2	0.3
ミリスチン酸	0.5	2.4	2.0
ペンタデシリン酸	1.0	2.4	2.7
パルミチン酸	20.7	17.0	10.8
パルミトレン酸	±	1.2	1.4
マーガリン酸	0.3	0.3	0.6
ステアリン酸	3.5	4.6	2.5
オレイン酸	5.6	4.9	2.6
リノール酸	64.7	63.5	73.9
リノレン酸	0.2	0.5	0.1
アラキドン酸	0.7	1.1	1.7
未知酸	1.1	1.8	1.2
その他	0.2	0.1	0.2
飽和酸	26.9	28.0	20.3
不飽和酸	70.5	70.1	78.3

【0013】表3において、粗脂質は、酸価33.7、過酸化価1.2、カルボニル価13.6、けん化価203.5、沃素価142.6であり、粗脂質は中性脂肪44.4%、リン脂質38.7%、糖脂質16.9%から成っている。また中性脂肪は、トリグリセリド27.9%、ステロール29.2%、遊離脂肪酸19.6%、ジグリセリド10.3%、モノグリセリド7.4%、ステロールエステル5.5%、その他0.1%から成っている。そしてリン脂質は、ホスファチジルエタノールアミン45.8%、ホスファチジルコリン+リゾホスファチジルエタノールアミン31.2%、カルジオリピン9.5%、リゾホスファチジルコリン+ホスファチジルセリン12.3%、その他1.2%から成っている。

【0014】

【表4】

成 分	平均分子量(万)	脂質中の割合(%)
β-グルカン	50	20
α-グルカン	200	10
β-ガラクトグルカン	200	15
リボヌクレオチド蛋白	1	10
蛋白グルカン	1~5	40
キシログルカン	1~5	5

【0015】上記のような組成を有する本発明の複合成分は一定の分解点、融点を示さず、強熱により炭化するが、著しく安定である。室温では少なくとも3年間は安定であり、120℃×20分間の滅菌処理を行っても活性の低下は見られない。

【0016】本発明は以上説明したような複合成分を活性成分とする免疫能低下改善作用を有する経口投与剤に係り、また該複合成分を含有する飲食品に係る。本発明の複合成分を免疫能低下改善作用を有する経口投与剤と

して供する最も簡便な方法は該複合成分を飲食品として供する方法である。

【0017】本発明の複合成分を飲食品として供する方法には下記のように各種がある。

1) 前記したような熱水抽出液、その濃縮液又はその凍結乾燥物をそのままふりかけとして、又はティーバックやカプセルの中に充填して使用する方法

2) 前記したような熱水抽出液又はその減圧濃縮液に糖類、酸類、塩類及び香料類等を調合して使用する方法

3) 前記したような熱水抽出液、その減圧濃縮液又はその凍結乾燥物をベイク品、発酵品、練り製品、乳製品、油脂製品、調味料、菓子等の食品、又はコーヒー、ココア、茶、果実ジュース、野菜ジュース、発酵飲料、清涼飲料等の飲料の製造工程で添加して使用する方法

【0018】

【実施例】

試験区分1 (複合成分の分離及びその評価)

・実施例1

ヒメマツタケの子実体を破碎し、乾燥して、その乾燥物100gに精製水1000mlを加え、緩やかに攪拌しながら水浴上で2時間、熱水抽出した。同一操作を2回繰り返して、2回の熱水抽出液を合わせた後、200mlになるまで減圧濃縮した。減圧濃縮液に最終エタノール濃度が70%になるまでエタノールを加え、遠心分離して、エタノール沈澱物9.3gを分離した。エタノール沈澱物を固定相としてDEAE-トヨパールゲル(商品名、東洋曹達工業社製)を充填したカラムクロマトグラフィーに供し、フェノール硫酸法により糖の発色がなくなるまで溶出して、溶出画分を分画した。溶出画分を透析した後、凍結乾燥して、複合成分4.5gを得た。得られ

た複合成分は前記のような組成及び理化学的性質を有していた。

【0019】かくして得た複合成分の経口投与による免疫能低下改善作用を下記のように評価した。

【0020】表5に記載した各実験群でそれぞれ、生後5週令の10匹のICR系雄性マウスの腹腔内にエーリッヒ腹水癌細胞 2×10^6 個/マウスを移植した。移植24時間後から、検体群では複合成分(検体)600mg/kgを1日1回の割合で10日間連日して胃ゾンデにより強制的に経口投与し、対照群では同様に生理食塩水を投与した。各実験群共に、最終投与後、更に24時間*

*経過した後にビोजーらの方法(Brit. J. Exp. Pathol., 34巻, 441~457頁, 1953年)にしたがってカーボンクリアランス試験を行ない、食食指数(K)値を求めた。次に採血後、直ちにマウスを殺して肝臓、脾臓、胸腺を摘出し、それらの重量を測定して、伊藤均らの方法(癌と化学療法, 12巻11号, 2149~2154頁, 1985年)で訂正食食指数(α)値を求めた。結果を表5に示した。

【0021】

【表5】

実験群	体 重 (%)			食食指数	訂正食食指数
	肝臓	脾臓	胸腺		
対照群	4.437 ± 0.169	0.379 ± 0.013	0.289 ± 0.015	0.0342 ± 0.0027	6.53 ± 0.14
検体群	4.899* ± 0.182	0.469* ± 0.012	0.337* ± 0.014	0.0493* ± 0.0034	7.24* ± 0.23

【0022】表5において、

体重(%): 体重に対する重量割合

*: t検定により0.01%の危険率で有意(以下、同じ)

【0023】表5の結果から、本発明の複合成分は、1)免疫系及び造血系のセンターともいべき肝臓、脾臓、胸腺の臓器重量が増加することより、担癌状態下及び抗癌剤投与下において惹起されるこれら臓器の障害作用を軽減させることができ、また2)食食指数及び訂正食食指数が増加することより、殺細胞性抗癌剤投与による細網内皮系機能の抑制を防止する作用を有することが判明した。

【0024】表6及び表7に記載した各実験群でそれぞれ、生後5週令の12匹のICR系雄性マウスの腹腔内※

※にエーリッヒ腹水癌細胞 2×10^6 個/マウスを移植し

20 た。移植24時間後から、検体群では複合成分(検体)600mg/kgを1日1回の割合で10日間連日して胃ゾンデにより強制的に経口投与し、対照群では同様に生理食塩水を投与した。投与3日、5日、7日及び10日後にそれぞれ3匹を放血致死させ、伊藤均らの方法(Immunological Communications, 12巻4号, 363~374頁, 1983年)で腹腔マクロファージ数を求め、また伊藤均らの方法(Japan. J. Pharmacol., 56巻, 195~202頁, 1991年)で補体第3成分(C3)陽性蛍光細胞の生成の有無を求めた。結果を表6及び表7に示した。

【0025】

【表6】

実験群	腹腔マクロファージ数($\times 10^6$)			
	3日	5日	7日	10日
対照群	2.3 ± 0.2	1.7 ± 0.3	2.2 ± 0.6	2.1 ± 0.5
検体群	3.6 ± 0.3 *	4.4 ± 0.3 *	4.8 ± 0.4 *	3.7 ± 0.4 *

【0026】

★ ★【表7】

実験群	C3陽性蛍光細胞数(%)			
	3日	5日	7日	10日
対照群	3.5 ± 0.4	4.5 ± 1.7	9.4 ± 2.1	8.3 ± 1.7
検体群	30.0 ± 7.4 *	61.3 ± 9.7 *	67.0 ± 4.3 *	52.9 ± 5.7 *

【0027】担癌状態になると、マクロファージの機能が低下し、宿主の免疫能が低下すること、またC3陽性蛍光細胞は活性化マクロファージ自身であり、これはLewis肺癌の肺転移抑制作用を持つことが伊藤均によって明らかになっている(Japan. J. Pharmacol., 41巻, 50

307~314頁, 1986年)。表6及び表7の結果から、本発明の複合成分は、腹腔マクロファージ数とC3陽性蛍光細胞を担癌状態下においても著明に増加させることより、宿主の免疫不全状態を改善する作用を有し、また癌の転移抑制に対しても有用であることが示さ

れた。

【0028】表8に記載した各実験群でそれぞれ、生後8週令の10匹のBALB/c系雌マウスを実験に供した。担癌マウス群のうちで担癌対照群及び検体投与群には、各マウスの皮下に、化学発癌剤である3-メチルコラントレンの注射によって作成したメサA線維肉腫細胞 1×10^5 個/マウスを移植した。担癌マウス群のうちで検体投与群には複合成分(検体)600mg/kgを1日1回の割合で21日間連日して経口投与した。また正常 *

※(非担癌)マウス群と担癌マウス群のうちで担癌対照群には同様に生理食塩水を投与した。最終投与24時間後にマウスを放血致死させ、脾臓中に存在するL3T4-陽性細胞とアシアロGM1-陽性細胞を伊藤均らの方法(Anti-Cancer Drug Design, 8巻, 193~202頁, 1993年)によりフロー・サイトメトリで測定した。結果を表8に示した。

【0029】

【表8】

検体項目	正常(非担癌)マウス群	担癌マウス群	
		担癌対照群	検体投与群
L3T4-陽性細胞 (ヘルパー・インデューサー T細胞のマーカー)	34.7 ±3.4	26.5* ±2.9	32.9*# ±1.5
アシアロGM1-陽性細胞 (ナチュラル・キラー細胞 と活性化マクロファージ のマーカー)	13.4 ±1.1	10.9* ±0.9	16.7*# ±1.4

【0030】表8において、

*: 正常(非担癌)マウス群と比較し、t検定により0.01%の危険率で有意

#: 担癌マウス群のうちで担癌対照群と比較し、t検定により0.01%の危険率で有意

【0031】表8の結果から、本発明の複合成分は担癌状態下におけるL3T4-陽性細胞及びアシアロGM1-陽性細胞の産生抑制に対して促進作用を示した。このことは担癌状態下及びT細胞に由来の免疫機能低下に基づくHIV(ヒト免疫不全ウイルス)感染にも有用であることを示している。

【0032】蘭州医学院(中国)及びその関連病院で治※

※療を行なっているHIV(ヒト免疫不全ウイルス)陽性の血友病患者のなかで複合成分の投与の同意を得られた3例について、複合成分(検体)3gを1日3回の割合で(合計9g/日)、食間に内服投与し、投与1月、3月、6月及び12月後にCD4陽性細胞(T4リンパ球)、CD8(T8リンパ球)及びCD4/CD8比を測定した。3例の年齢分布は20~47才であり、非加熱凝固因子製剤の平均投与期間は7年1ヶ月であった。結果を3例の平均値で表9に示した。

【0033】

【表9】

測定項目	投与前	1月	3月	6月	12月
CD4	679.3	712.5	767.7	781.2	770.4
CD8	1331.9	1365.9	1324.3	1290.9	1196.2
CD4/CD8	0.51	0.52	0.58	0.61	0.64

【0034】エイズ発症の予知因子としてCD4/CD8比が重要な意味を持つことは三間屋純一らによって明らかにされており(日本小児血液学会雑誌, 3巻, 255頁, 1989年)、CD4/CD8比が2から1まで低下し、更に0.5から0.25以下になると、症状がでるとされている。表9の結果から、本発明の複合成分は、CD4/CD8比の改善作用を持ち、副作用もなく長期にわたり安全に投与できる有用なものであることが示された。

【0035】下記第1~6群の各実験群におけるそれぞれ10匹のマウスについて、最終投与24時間後に、抗

小板を測定した。凝集価(抗TNP抗体価)は、予めトリニトロフェノール(TNP)をヒツジ赤血球(SRBC)に結合(TNP-SRBC)させ、その10%浮遊液0.2mlをマウスの静脈内に注射して免疫しておき、最終投与24時間後に採血し、マイクロタイトレイション法によってTNP結合ヒトO型赤血球をテスト抗原として用いた赤血球凝集反応により測定した。結果を表10に示した。

第1群: 生後7週令のICR系雄性無処置正常マウス

第2群: 非照射エーリッヒ腹水担癌マウス

第3群: エーリッヒ腹水癌移植7日後に300Rで1回全身照射マウス

第4群：エーリッヒ腹水癌移植24時間後より抗癌剤としてマイトマイシンCを0.5mg/kg、1日1回の割合で6日間連日して腹腔内に投与したマウス

第5群：エーリッヒ腹水癌移植24時間後より300Rで1回全身照射し、同時に複合成分（検体）600mg/kgを1日1回の割合で6日間連日して経口投与したマウス

第6群：エーリッヒ腹水癌移植24時間後より抗癌剤と*

＊してマイトマイシンCを0.5mg/kg、1日1回の割合で6日間連日して腹腔内に投与し、同時に複合成分（検体）600mg/kgを1日1回の割合で6日間連日して経口投与したマウス

【0036】

【表10】

実験群	凝集価 (抗TNP抗体価)	赤血球 ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	白血球 ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	血小板 ($\times 10^4/\text{mm}^3$)
第1群	6.2 \pm 0.7	8.27 \pm 0.30	8.3 \pm 2.31	109.5 \pm 17.3
第2群	4.3 \pm 0.4	6.69 \pm 0.37	7.6 \pm 2.31	80.5 \pm 13.7
第3群	4.1 \pm 0.2	6.21 \pm 0.41	7.3 \pm 1.97	74.3 \pm 19.4
第4群	3.7 \pm 0.2	5.37 \pm 0.36	5.9 \pm 1.42	71.3 \pm 22.1
第5群	5.6 \pm 0.3	7.90 \pm 0.25	8.1 \pm 2.04	92.6 \pm 10.7
第6群	5.2 \pm 0.2	7.82 \pm 0.16	7.8 \pm 1.99	89.7 \pm 11.4

【0037】表10の結果から、本発明の複合成分は、担癌状態下における放射線照射及び抗癌剤投与で生じる相乗的免疫抑制作用と、赤血球、白血球及び血小板減少作用とに対して、回復促進的に働き、これらを正常レベル近くまで回復させることができ、したがって癌治療（抗癌化学療法、放射線照射）における免疫抑制防止と血液障害による副作用防止に有効であることが示された。

【0038】別に複合成分の経口投与による急性毒性試験を行なったが、マウスに対するLD50は3000mg/kg超であり、ラットに対するLD50は2500mg/kg超であった。またラットに対する亜急性毒性試験結果及びウサギに対する一般薬理試験結果からも、本発明の複合成分は毒性に関する問題点を有しなかった。

【0039】試験区分2（飲食品の製造）

・実施例2

実施例1の場合と同様にして熱水抽出液を得た後、該熱水抽出液1kgに砂糖100g、蜂蜜15g、カラメル5

g、アスコルビン酸0.75g、クエン酸0.3g及びレモン系香料0.2gを調合し、健康飲料を製造した。

【0040】・実施例3

実施例1の場合と同様にしてエタノール沈澱物を得た後、該エタノール沈澱物の凍結乾燥物10g及びアスコルビン酸0.5gをリンゴ搾汁液2kgに調合してリンゴジュースを製造した。

【0041】・実施例4

実施例1の場合と同様にして凍結乾燥した複合成分を得た後、若干量の塩化カルシウム及び第三リン酸ナトリウムと共に該複合成分5gを、採肉し、水さらしして脱水した後、予冷した魚肉2kgにそのすりつぶし工程で添加し、凍結して冷凍すり味を製造した。

【0042】

【発明の効果】既に明らかなように、以上説明した本発明には、経口投与により従来の免疫促進剤とは異なる優れた免疫能低下改善作用を示し、その具体的使用に際して誠に簡便であるという効果がある。